

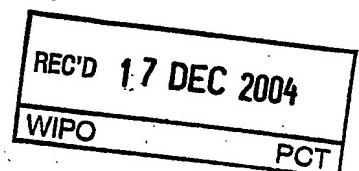
10/12/04



# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

**COPIE OFFICIELLE**



Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 15 NOV. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

**BEST AVAILABLE COPY**

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIETE  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
[www.inpi.fr](http://www.inpi.fr)



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

26bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone: 01 53.04.53.04 Télécopie: 01.42.94.86.54

Code de la propriété intellectuelle-livreVI  
REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

DATE DE REMISE DES PIÈCES: N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL: DÉPARTEMENT DE DÉPÔT: DATE DE DÉPÔT:	Jean LEHU BREVATOME 3, rue du Docteur Lancereaux 75008 PARIS France
Vos références pour ce dossier: B14551ALP-DD2666	

<b>1 NATURE DE LA DEMANDE</b>			
Demande de brevet			
<b>2 TITRE DE L'INVENTION</b>			
PROCEDE DE TRI DE PARTICULES.			
<b>3 DECLARATION DE PRIORITE OU REQUETE DU BENEFICE DE LA DATE DE DEPOT D'UNE DEMANDE ANTERIEURE FRANCAISE</b>	Pays ou organisation	Date	N°
<b>4-1 DEMANDEUR</b>			
Nom	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE		
Rue	31-33, rue de la Fédération		
Code postal et ville	75752 PARIS 15ème		
Pays	France		
Nationalité	France		
Forme juridique	Etablissement Public de Caractère Scientifique, technique et Ind		
<b>5A MANDATAIRE</b>			
Nom	LEHU		
Prénom	Jean		
Qualité	Liste spéciale: 422-5 S/002, Pouvoir général: 7068		
Cabinet ou Société	BREVATOME		
Rue	3, rue du Docteur Lancereaux		
Code postal et ville	75008 PARIS		
N° de téléphone	01 53 83 94 00		
N° de télécopie	01 45 63 83 33		
Courrier électronique	brevets.patents@brevalex.com		
<b>6 DOCUMENTS ET FICHIERS JOINTS</b>			
Texte du brevet	Fichier électronique	Pages	Détails
Dessins	textebrevet.pdf	18	D 15, R 2, AB 1
Désignation d'inventeurs	dessins.pdf	5	page 5, figures 15, Abrégé: page 2, Fig.4
Pouvoir général			

<b>7 MODE DE PAIEMENT</b>				
Mode de paiement	Prélèvement du compte courant			
Numéro du compte client	024			
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>				
Etablissement immédiat				
<b>9 REDEVANCES JOINTES</b>				
062 Dépôt	Devise	Taux	Quantité	Montant à payer
063 Rapport de recherche (R.R.)	EURO	0.00	1.00	0.00
Total à acquitter	EURO	320.00	1.00	320.00
	EURO			320.00

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.  
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

## Réception électronique d'une soumission

Il est certifié par la présente qu'une demande de brevet (ou de certificat d'utilité) a été reçue par le biais du dépôt électronique sécurisé de l'INPI. Après réception, un numéro d'enregistrement et une date de réception ont été attribués automatiquement.

Demande de brevet : X

Demande de CU :

<b>DATE DE RECEPTION</b>	4 décembre 2003
<b>TYPE DE DEPOT</b>	INPI (PARIS) - Dépôt électronique
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUE PAR L'INPI</b>	0350972
<b>Vos références pour ce dossier</b>	B14551ALP-DD2666
<b>DEMANDEUR</b>	
Nom ou dénomination sociale	COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Nombre de demandeur(s)	1
Pays	FR

Dépôt en ligne: X

Dépôt sur support CD:

<b>TITRE DE L'INVENTION</b>	
PROCEDE DE TRI DE PARTICULES.	
<b>DOCUMENTS ENVOYES</b>	
package-data.xml Design.PDF FR-office-specific-info.xml dessins.pdf	Requetefr.PDF ValidLog.PDF Comment.PDF indication-bio-deposit.xml
	application-body.xml fee-sheet.xml textebrevet.pdf request.xml

## EFFECTUE PAR

Effectué par:	J.Lehu
Date et heure de réception électronique:	4 décembre 2003 17:11:00
Empreinte officielle du dépôt	07:C8:12:05:1B:6D:B9:2D:44:34:04:47:9D:36:E2:5B:CD:C2:09:F1

/ INPI PARIS, Section Dépôt /

SIEGE SOCIAL  
 INSTITUT 29 bis, rue de Saint Petersbourg  
 NATIONAL DE 75800 PARIS cedex 08  
 LA PROPRIETE Téléphone : 01 53 04 53 04  
 INDUSTRIELLE Télécopie : 01 42 93 59 30

## PROCEDE DE TRI DE PARTICULES

## DESCRIPTION

## 5 DOMAINE TECHNIQUE ET ART ANTERIEUR

La présente invention concerne le domaine du tri et de l'analyse de petites particules. Ces dernières peuvent être des particules biologiques tels que des liposomes, des cellules animales ou végétales, des virus ou micro-organismes, des macromolécules telles que par exemple de l'ADN, de l'ARN ou des protéines, ou encore des particules inorganiques telles que des microbilles. Les domaines d'applications peuvent être alors l'analyse chimique ou biomédicale ou le contrôle qualité (calibration de microparticules).

Les approches connues en matière de tri cellulaire de particules, comme la cytométrie en flux, trouvent leurs limites notamment pour l'analyse de populations cellulaires rares ou très minoritaires, ainsi que pour la manipulation de particules inférieures au micron.

La technique des pinces optiques repose sur le confinement d'une particule (microbille, ou cellule, ou macromolécule) par le gradient d'intensité généré au cœur (« waist ») d'un faisceau laser continu. Elle est décrite par exemple dans l'article de « Ashkin and Dziedic » intitulé « Observation of radiation-pressure trapping of particles by alternating light beams », paru dans Physics Review Letters, 54(12), 1985. Cette opération est rendue possible par l'équilibrage des pressions de radiations. Une fois cette opération

réalisée, on déplace la particule en déplaçant le faisceau.

Aussi, les distances de déplacement sont généralement limitées à quelques centaines de microns  
5 sur ce type de dispositif.

Enfin, le tri de particules métalliques n'est pas possible.

La figure 1 représente le principe d'un tel dispositif.

10 Une particule 2 est confinée par un faisceau 4 dans un milieu liquide 6.

La figure 2 est un diagramme représentant un champ de force engendré par le dispositif, de part et d'autre du faisceau laser 4 : la particule se trouve 15 confinée dans un champ de forces mécaniques (induit par la pression de radiation provoquée par le champ électrique du laser), ce qui permet de la piéger.

20 Ce type de dispositif présente deux inconvénients : le déplacement des particules repose sur l'emploi d'un système mécanique dédié, qui peut s'avérer délicat et coûteux à mettre en place.

De plus, il est exclu de réaliser une quelconque séparation des espèces en fonction de leurs caractéristiques de forme ou de taille.

25 De récents travaux, tels que décrits par exemple dans l'article de T.Tanaka et al., paru dans Applied Physics Letters, Vol. 77, P. 3131, 2000 font appel à des dispositifs d'optique guidée, et suggèrent la possibilité de concevoir un dispositif de 30 déplacement cellulaire par des forces optiques ; cette technique est limitée aux objets de taille très

inférieure à la taille d'une cellule biologique (billes et colloïdes de l'ordre de quelques microns).

Comme illustré sur la figure 3, ce dispositif utilise un guide d'ondes 10 à ruban réalisé sur un substrat 12. Une particule est déplacée par une force de pression photonique, qui est proportionnelle à l'intensité lumineuse au niveau de cette dernière. La particule est maintenue sur le guide par une force qui est proportionnelle au gradient de l'intensité.

Dans le cas où le guide d'onde est monomode, il existe un maximum d'intensité lumineuse, en fait là où va se retrouver piégée la particule.

Il se pose le problème de trouver un procédé et un dispositif permettant de trier des particules de manière simple et efficace.

#### EXPOSÉ DE L'INVENTION

L'invention concerne des systèmes pour trier des particules ou des objets, par exemple d'intérêt biologique.

L'invention concerne d'abord un procédé de tri de particules comprenant les étapes de :

- a) placement desdites particules sur au moins un guide d'onde d'un support,
- b) injection d'un rayonnement lumineux à travers ledit guide d'onde, permettant le déplacement sur ledit guide d'onde des particules et la séparation des particules.

Les particules peuvent alors former des amas en fonction de leurs propriétés.

Une étape préalable de marquage des particules permet de modifier leur indice optique.

Les particules à trier sont par exemple des cellules ou des macromolécules ou des microbilles.

5 Le rayonnement utilisé peut être dans un domaine spectral compris entre le proche ultraviolet et l'infrarouge, de préférence dans l'infrarouge pour des cellules biologiques.

#### BREVE DESCRIPTION DES FIGURES

10 La présente invention sera mieux comprise à la lecture de la description d'exemples de réalisation donnés, à titre purement indicatif et nullement limitatif, en faisant référence aux dessins annexés sur lesquels :

15 - les figures 1, 2, 3, illustrent des techniques connues,

- les figures 4A-4B, 5A-5B, 6A-6B, représentent divers exemples de procédés de tri selon l'invention,

20 - les figures 7A-7D, 8, représentent des étapes de réalisation de guides d'onde pouvant être utilisés lors de procédés de tri selon l'invention.

25 - la figure 9 représente un dispositif permettant d'observer le procédé de tri suivant l'invention.

Des parties identiques, similaires ou équivalentes des différentes figures portent les mêmes références numériques de façon à faciliter le passage d'une figure à l'autre.

Les différentes parties représentées sur les figures ne le sont pas nécessairement selon une échelle uniforme, pour rendre les figures plus lisibles.

## 5 EXPOSÉ DÉTAILLÉ DE MODES DE RÉALISATION PARTICULIERS

Un exemple général de procédé selon la présente invention, va à présent être décrit en liaison avec les figures 4A-4B. Ce procédé permet d'effectuer le tri d'un groupe de particules en fonction de leurs propriétés physiques. Par particules on entend des éléments organiques ou inorganiques ou des objets ayant une taille pouvant aller de 5 nanomètres à 100 micromètres. Ces particules peuvent être par exemple des éléments biologiques tels que des cellules animales ou végétales, des macromolécules telles que des protéines, de l'ADN, de l'ARN.

Les particules peuvent également être également des micro-objets tels que par exemple des microbilles.

Par propriétés physiques on entend des propriétés telles que la taille, la masse, les propriétés optiques telles que l'indice de réfraction de ces particules.

Pour réaliser le tri d'un groupe de particules 100, on dispose tout d'abord ce groupe sur un guide d'onde 104 optique formé dans un support 108.

L'ensemble peut éventuellement baigner dans un milieu liquide, par exemple de l'eau (indice environ 1,33). Pour des applications biologiques ce liquide peut aussi être une solution tampon ou un milieu de

suspension cellulaire, dont l'indice est aussi voisin de 1,33.

Pour une meilleure efficacité du procédé de tri, le support, le guide d'onde, ainsi que le milieu dans lequel se trouve le support ont, de préférence, des indices optiques différents ou très différents de ceux des particules que l'on souhaite trier.

Le support 108 peut être par exemple à base d'un matériau transparent tel que le verre ou à base d'un matériau semi-conducteur tel que le silicium. Le guide d'onde 104 peut être multimodes ou monomode (figure 4A). Ce dernier peut s'étendre sur une longueur qui peut être comprise entre quelques micromètres et quelques centimètres sur le support 108.

Le groupe de particules 100 peut être disposé sur une zone du guide d'onde 104, de manière manuelle ou à l'aide de moyens automatisés.

Ensuite, à l'aide d'un dispositif optique, intégré ou non au support 108, un rayonnement lumineux R est injecté dans le guide d'onde 104. Ce rayonnement peut être injecté pendant une durée prédéterminée, par exemple de l'ordre de quelques secondes à quelques minutes.

Le rayonnement injecté a une longueur d'onde comprise entre le proche ultraviolet et l'infrarouge, par exemple comprise entre 300 nm et 1200 nm. Pour des particules ou des cellules biologiques, on utilisera de préférence des longueurs d'onde dans l'infrarouge, par exemple la longueur d'onde 1064 nm d'un laser YAG. La puissance injectée peut être, en continu, de l'ordre de quelques dizaines à quelques

centaines de mW, par exemple comprise entre 50 mW et 1 W, par exemple voisine de 150 mW.

On peut donc choisir le rayonnement suivant la nature, mais aussi la taille des particules à trier.

5 Le passage du rayonnement lumineux à travers le guide d'onde 104 crée une onde évanescante en surface du guide. Cette onde permet de déplacer les particules situées au-dessus du guide, par la diffusion de la lumière sur ces particules. Le déplacement est  
10 effectué le long du guide d'onde, dans la direction de propagation du rayonnement lumineux.

Les particules se déplacent alors à des vitesses différentes, et donc sur des longueurs différentes les unes des autres, suivant leurs taille,  
15 masse et indices optiques respectifs.

Après une certaine durée d'injection du rayonnement lumineux, le mouvement des particules peut être stoppé. Ces dernières se sont alors déplacées sur des longueurs respectives différentes sur le guide d'onde 104, en fonction de leur taille ou/et de leurs masses ou/et de leurs indices de réfraction respectifs.  
20

Les longueurs de déplacement peuvent aller par exemple de plusieurs centaines de nanomètres à quelques centimètres.

25 Les particules sont alors généralement regroupées en plusieurs amas 114, 116, 118 occupant chacun une surface plus ou moins étendue sur le guide d'onde 104 (figure 4B). La longueur de déplacement de chaque particule étant caractéristique des ses propriétés physiques, des particules appartenant à un  
30

même amas ont entre elles certaines propriétés physiques proches, voire communes.

Des particules de compositions identiques mais de tailles différentes pourront ainsi être triées, 5 de même que des particules de mêmes tailles ou de tailles sensiblement identiques mais de compositions et/ou de propriétés physiques différentes pourront être triées.

La figure 5A illustre le premier cas : des 10 particules 214, 216, 218, de tailles différentes, auront des comportements différents sous l'influence du rayonnement évanescence, et pourront ainsi être triées (figure 5B).

Selon un autre exemple, des particules 15 ayant des indices de réfraction différents auront des comportements différents sous l'influence du rayonnement évanescence. Cet exemple est illustré sur les figures 6A et 6B, où des particules, initialement mélangées (figure 6A), de tailles comparables mais 20 d'indices différents sont progressivement triées à l'aide d'un procédé selon l'invention (figure 6B).

Selon encore un autre exemple, dans le domaine infrarouge, les cellules vivantes ou les particules biologiques ont un indice (environ 1,37 pour 25 du cytoplasme, 1,39 pour un noyau, 1,42 pour des mitochondries comme indiqué dans la publication « three dimensional computation of light scattering cells de A.Dunn et R. Richards-Kortum, provenant du IEEE Journal of selected topics in quantum electronices vol.2 n°4 de 30 décembre 1996) voisin de celui de l'eau (environ 1,33), tandis que des particules d'or, plus petites, ont un

indice beaucoup plus faible (environ 0,3 à la longueur d'onde de 1064 nm) et présente une absorption élevée (la partie imaginaire de l'indice étant approximativement de 7) à la longueur d'onde précitée.

5 Les particules d'or seront déplacées plus facilement par le rayonnement évanescant, qui aura un effet plus important sur les particules d'or que sur les cellules, pourtant plus grosses que les particules d'or.

10 Pour certaines applications, il peut être avantageux de marquer des cellules, par exemple avec des particules d'or, ce qui permet d'augmenter la différence d'indice optique entre l'ensemble constitué par chaque cellule et ses particules de marquage, et  
15 son environnement. Pour des cellules biologiques, on peut utiliser, au lieu de petites particules d'or, des particules de polymère, ou de tout matériau sur lequel on peut greffer des objets biologiques : là encore ces particules sont plus petites que les cellules, ont un  
20 indice plus éloigné de l'indice d'un milieu tel que l'eau, et pourraient être utilisées comme marqueurs.

Selon encore un autre exemple de procédé selon la présente invention, les particules considérées sont des cellules animales ou végétales que l'on souhaite trier, par exemple suivant leur taille.

Le support sur lequel le tri est réalisé peut être plongé dans une solution liquide, de préférence biocompatible permettant de préserver les cellules.

30 Pour permettre d'améliorer le tri des cellules, on peut effectuer tout d'abord un marquage de

ces cellules afin de modifier leur indice optique et de leur permettre d'être plus réactives au procédé de tri suivant l'invention.

Les cellules ainsi marquées auront un indice optique de préférence très différent de celui du support et du guide d'onde, ainsi que du milieu dans lequel est placé le support.

Le marquage peut être réalisé par exemple à l'aide de billes métalliques ou de billes de polymère que l'on accroche ou bien que l'on greffe auxdites cellules au moyen, par exemple, du modèle anticorps antigène, ou biotine/streptavidine.

Un prélèvement d'un groupe de cellules marquées est tout d'abord effectué par exemple à l'aide d'une pipette. On dépose ensuite ledit prélèvement, dans un réceptacle du support. Ce réceptacle peut être une chambre telle que par exemple une chambre de type Gene Frame ®. De préférence, le réceptacle est imperméable aux gaz et permet d'isoler thermiquement les cellules.

Ce groupe de cellules peut être transféré depuis le réceptacle vers une zone placée sur le guide d'onde, par exemple au moyen d'un ou plusieurs capillaires.

Ensuite, on injecte un rayonnement lumineux R, dans le guide d'onde 104, pendant une durée préterminée, par exemple de l'ordre de quelques minutes. Le rayonnement utilisé lors d'un tri de cellules sera de préférence inoffensif vis-à-vis des cellules. Ainsi, le rayonnement lumineux utilisé peut être un rayonnement laser émettant à une longueur

d'onde située entre le proche infrarouge et le rouge lointain, par exemple comprise entre 1000nm et 1200 nm, par exemple voisine de 1064 nm.

Le passage du rayonnement laser à travers  
5 le guide d'onde crée une onde évanescante permettant de déplacer les cellules sur le guide le long d'un axe transversal à ce dernier, selon la direction de propagation du rayonnement lumineux. Les cellules se déplacent alors à des vitesses différentes les unes des 10 autres, en fonction de leurs tailles respectives.

Lorsque la durée prédéterminée d'injection est écoulée, le mouvement des cellules est stoppé. Ces dernières sont regroupées en plusieurs amas 314, 316, 318, comme illustré sur la figure 6B, et se situent par rapport à la zone de départ à des distances moyennes, 15 respectives différentes.

Un dispositif utilisé pour effectuer le procédé de tri suivant l'invention et comprenant un support et un ou plusieurs guides d'ondes tels que ceux précédemment décrits, peut être intégré par exemple dans un MEMS (MEMS pour microsystème électromécanique) ou dans une puce (« lab on a chip »).

Un guide d'onde tel que ceux précédemment décrits peut être réalisé par exemple par un procédé de réalisation en couches minces ou par exemple par un 25 procédé de type « échange d'ions ».

Tout d'abord (figure 7A), sur une surface 140 de verre sont déposées, dans l'ordre, une couche d'aluminium 142 (obtenue par évaporation ou 30 pulvérisation par exemple), puis une couche 144 de résine photosensible (dépôt à la tournette « Spin

Coating »). Un masque 146 de lithographie en chrome est mis alors en contact sous vide avec la couche de résine. Le masque représente le négatif du motif final (le guide d'onde).

5 Puis le masque est éclairé à l'aide d'un rayonnement 148 incohérent dont la longueur d'onde centrale se situe, par exemple, autour de 350 nm, et pour laquelle la résine est photosensible. La partie qui n'est pas cachée par le masque voit sa structure 10 chimique modifiée.

Le support est ensuite trempé dans une solution qui va « développer » la résine 144. Ainsi, les zones dans lesquelles la structure chimique a été modifiée par l'insolation sont gravées (figure 7B).

15 La plaque est ensuite plongée dans une solution de gravure de l'aluminium (AluEtch). Cette solution n'attaque pas la résine. Ainsi, seules les parties développées précédemment sont gravées (figure 7C).

20 Enfin, la résine est dissoute à l'acétone. Seul le motif 150 reste sur la plaque (figure 7D).

Le guide est ensuite formé par échange d'ions. Le support est plongé dans un bain de sels contenant du nitrate d'argent et du nitrate de sodium. 25 La proportion entre ces sels détermine la teneur en argent qui s'échange dans le verre 140. Le bain contient généralement entre 10% et 50% d'argent suivant l'application. La température de fusion des sels étant d'environ 310°C, l'étape d'échange est effectuée entre 30 320°C et 350°C (figure 8).

Puis, le masque d'aluminium est retiré par exemple par gravure.

On peut ensuite éventuellement réaliser un recuit : la plaque de verre est chauffée sans aucun contact avec un bain. Cette étape permet de faire pénétrer plus profondément les ions d'argent vers l'intérieur du support en verre. On peut de cette manière former un guide d'onde.

Afin de réduire des effets de freinage sur les particules, du fait d'un frottement contre la surface supérieure du guide, on peut revêtir celui-ci d'un revêtement spécial, par exemple une fine couche de téflon.

Un exemple d'application peut être décrit dans le domaine de la biologie.

Dans un échantillon cellulaire hétérogène, on cherche à isoler une certaine sous population caractérisée par un phénotype spécifique, par exemple la présence d'un certain type de macromolécules de surface, telles que par exemple, des protéines. Par ailleurs, on dispose de molécules sondes, comme des anticorps, capables de reconnaître et de se lier avec une très forte affinité à ces marqueurs phénotypiques. Dans le cas de molécules sondes de type anticorps, les marqueurs phénotypiques sont appelés des antigènes. Par des moyens connus de l'homme de l'art, les anticorps sont fixés à des billes choisies pour leurs caractéristiques particulières, par exemple des billes d'or. Ces billes d'or fonctionnalisées sont ensuite greffées sur la surface des cellules, ces dernières

peuvent, par exemple, être des lymphocytes isolés du sang et que l'on souhaite tirer.

Les cellules marquées sont déposées dans une chambre, sur un support (par dispositif de focalisation intégré au capot, par exemple). La chambre est par exemple un dispositif du type Gene Frame® (Abgene®). Cette petite chambre autocollante, très simple, possède un système de jointure imperméable au gaz, permet une résistance à des températures jusqu'à 10 97°C et prévient la perte de réactif due à l'évaporation. Elle est habituellement utilisée pour des procédures d'hybridation et d'amplification *in situ* en biologie.

La lumière laser est injectée dans le guide. La longueur d'onde choisie est située dans le rouge lointain/proche infrarouge, une région spectrale de transparence biologique qui permet d'assurer la viabilité des cellules après traitement ; (il n'y a pas d'absorption de la part des molécules biologiques, ni de l'eau). Le tri entre cellules et billes non fixées s'effectue comme décrit ci-dessus.

Les cellules marquées sont déplacées jusqu'à une fenêtre d'analyse/récupération. La récupération des particules biologiques peut se faire, 25 par exemple par des moyens fluidiques (récupération par un capillaire) ou plus classique (récupération à la pipette au niveau d'une chambre de récupération adaptée à la taille du cône).

D'une manière générale, des moyens 30 d'observation peuvent être prévus, par exemple une caméra CCD positionnée au-dessus du guide 104. Ces

moyens vont permettre une surveillance du tri opéré de la manière décrite ci-dessus.

La figure 9 représente un système de tri de particules 100 sur un support 108 incorporant un système de guides selon l'invention. Un objectif 200 permet la focalisation d'un faisceau laser R (par exemple un YAG à 1064 nm) dans un guide 104. Les particules à trier sont contenues dans une chambre 210 disposée sur une lame 220. Une caméra 230 permet de réaliser une image du tri, par exemple par l'intermédiaire d'un dispositif de focalisation ou d'un zoom 240. En sortie du dispositif peuvent être également disposés des moyens 250, 260 (objectif, caméra) pour former une image du rayonnement transmis.

L'invention s'applique non seulement au tri de cellules marquées, mais aussi à d'autres domaines, par exemple à la calibration de billes ou de microbilles, notamment en latex ou en or.

**REVENDICATIONS**

1. Procédé de tri de particules comprenant les étapes de :

- 5        a) placement desdites particules (100) sur au moins un guide d'onde (104) d'un support (108),  
b) injection d'un rayonnement lumineux R à travers ledit guide d'onde, permettant le déplacement sur ledit guide d'onde des particules et la séparation  
10      des particules.

2. Procédé selon la revendication 1, les particules formant des amas (114, 116, 118) sur le guide d'onde (104).

15        3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, les particules triées étant de compositions voisines et de tailles différentes.

20        4. Procédé selon la revendication 1 ou 2, les particules triées étant de tailles identiques ou voisines et de compositions différentes.

25        5. Procédé selon la revendication 1 ou 2, comportant en outre une étape de marquage des particules préalablement à l'étape a), afin de modifier leur indice optique.

30        6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, les particules étant des cellules ou des macromolécules ou des microbilles.

7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, le rayonnement introduit étant dans un domaine spectral compris entre le proche ultraviolet et l'infrarouge.

5

8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, les particules étant des microbilles, et des cellules marquées de microbilles, et le rayonnement étant situé dans le domaine infrarouge.

10

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, dans lequel les particules baignent dans un liquide.

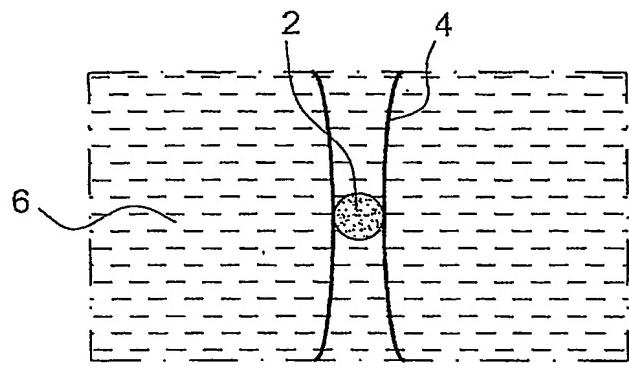


FIG. 1

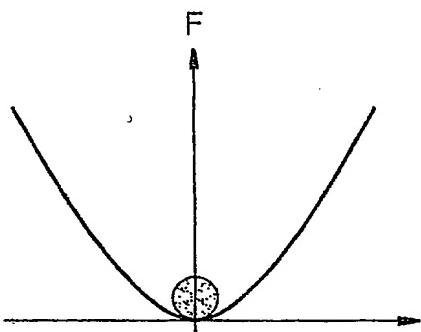


FIG. 2

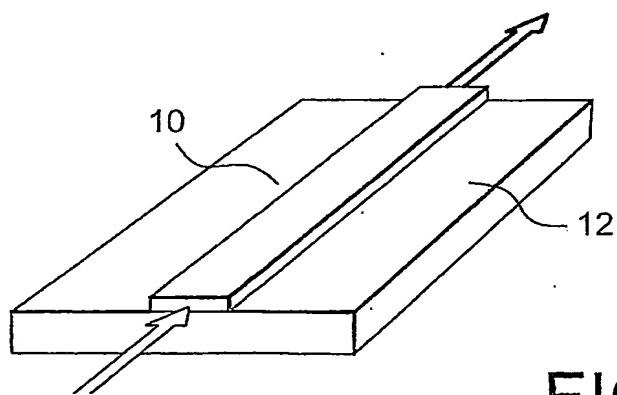
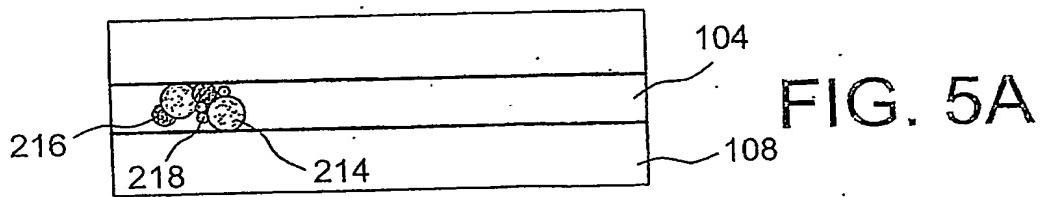
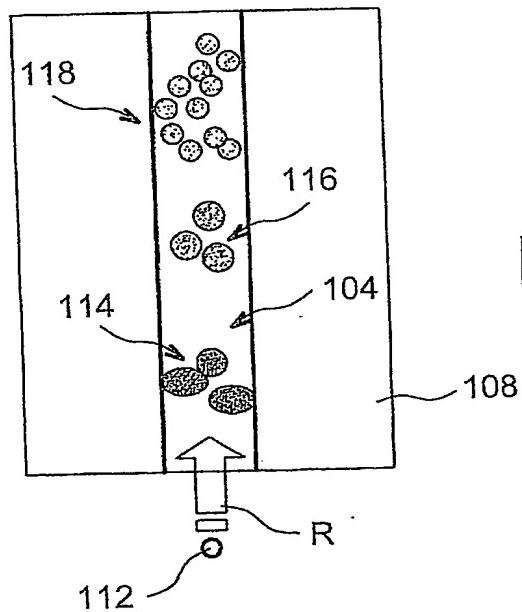
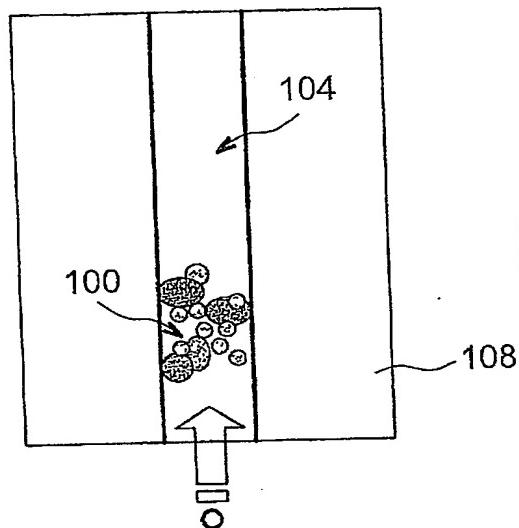
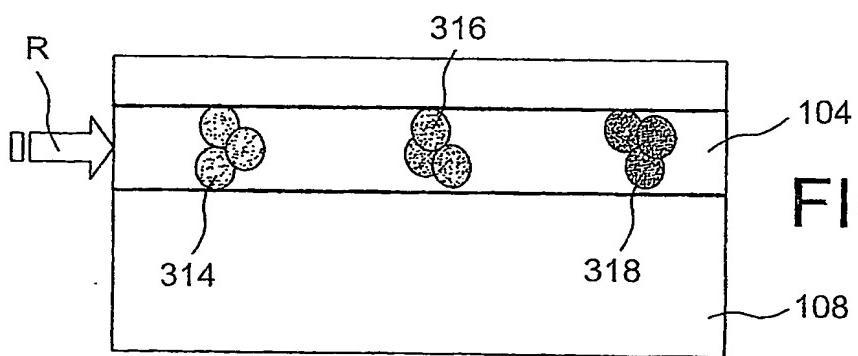
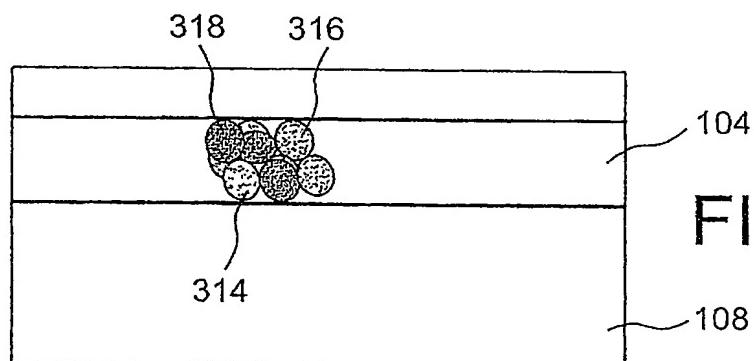
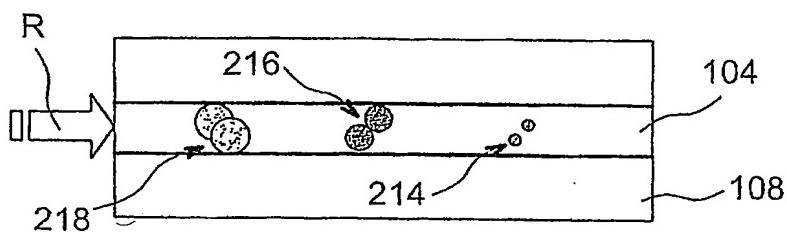


FIG. 3





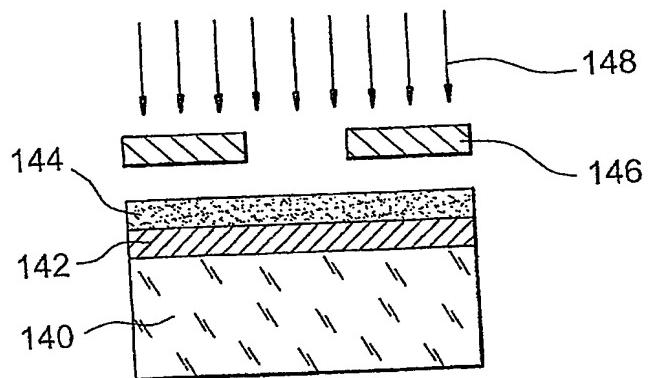


FIG. 7A

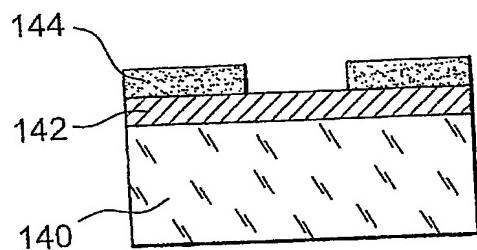


FIG. 7B

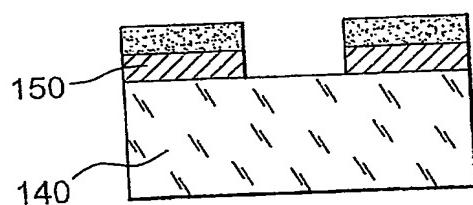


FIG. 7C

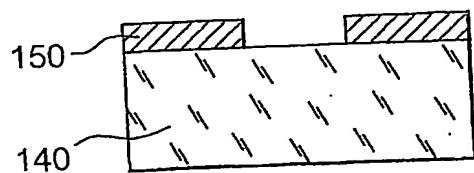


FIG. 7D

5 / 5

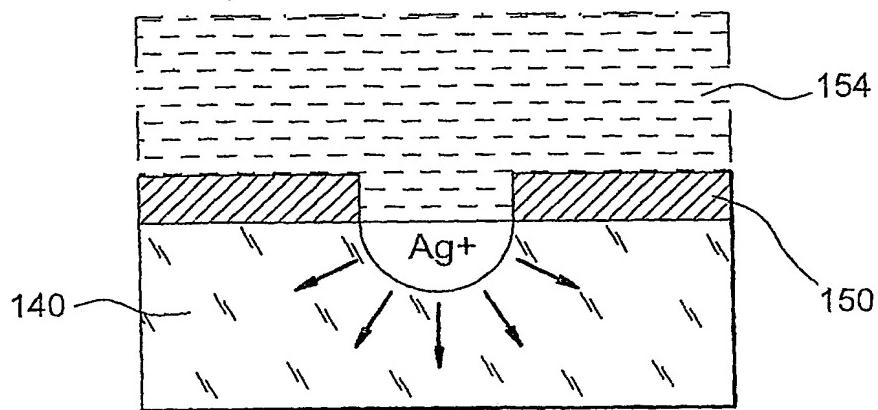


FIG. 8

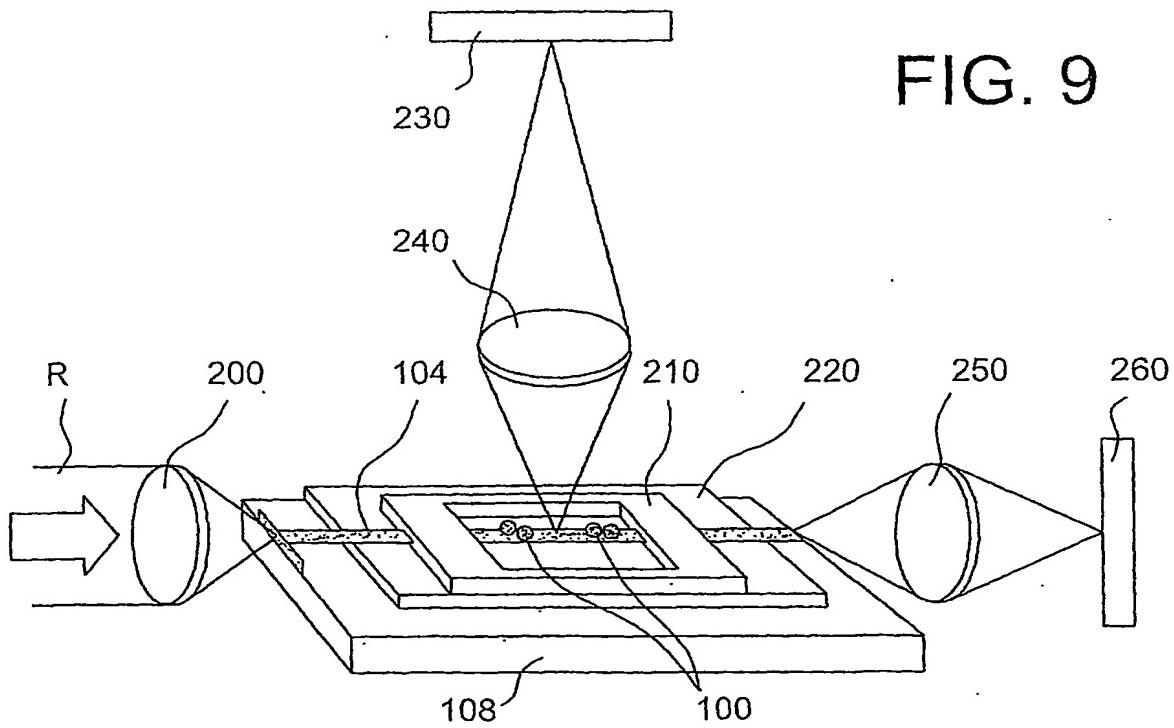


FIG. 9



# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITE

## Désignation de l'inventeur

Vos références pour ce dossier	B14551ALP-DD2666
N°D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION	PROCEDE DE TRI DE PARTICULES.
LE(S) DEMANDEUR(S) OU LE(S) MANDATAIRE(S):	
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S):	
Inventeur 1	
Nom	GETIN
Prénoms	Stéphane
Rue	41, rue des Eaux Claires
Code postal et ville	38100 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 2	
Nom	FUCHS
Prénoms	Alexandra
Rue	Le Bressot
Code postal et ville	38470 BEAULIEU
Société d'appartenance	
Inventeur 3	
Nom	COLAS
Prénoms	Guillaume
Rue	2 rue Raymond Bank
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	
Inventeur 4	
Nom	GAUGIRAN
Prénoms	Stéphanie
Rue	6 rue Vlcat
Code postal et ville	38000 GRENOBLE
Société d'appartenance	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire.  
Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

Signé par

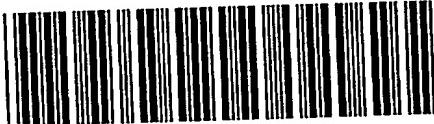
Signataire: FR, Brevatome, J.Lehu

Emetteur du certificat: DE, D-Trust GmbH, D-Trust for EPO 2.0

Fonction

Mandataire agréé (Mandataire 1)

PCT/EP/2004/053260



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record.**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

**BLACK BORDERS**

**IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

**FADED TEXT OR DRAWING**

**BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

**SKEWED/SLANTED IMAGES**

**COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

**GRAY SCALE DOCUMENTS**

**LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

**REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

**OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**